Zur Frage einer Korrelation von Fibrinolyse im Blutserum und proteolytischer Aktivität im Urin

Wolfgang Popp

1962

Aus dem
Pathologischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Dürgeloh

Zur Frage einer Korrelation von Fibrinolyse im Blutserum und proteolytischer Aktivität im Urin

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wolfgang Popp
aus München

München 1969

A. Bauhart, München 2, Calvinstraße 21 – Telefon 21177

AUS DEM
PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. W. Büngeler

Zur Frage einer Korrelation von Fibrinolyse im Blutserum und proteolytischer Aktivität im Urin

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wolfgang Popp
aus München

München 1962

A. Schubert, München 5, Corneliusstr. 21 · Telefon 221777

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. W. BÜNGELER
Dekan:	Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 26.6.1962

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Forschungen auf dem Gebiet der Proteolyse des Blutes und Harnes wurden schon vor vielen Jahrzehnten mit Intensität begonnen. Sie sind weiterhin hochaktuell und in enzymologischer Hinsicht von grosser Ergiebigkeit. Ermutigend sind auch Versuche der jüngsten Zeit, proteolytische Fermente und deren Faktoren in der Therapie anzuwenden. Bescheiden aber und meist nur von kurzer Dauer waren die Erfolge auf dem Gebiet der medizinischen Diagnostik.

Die vorliegende Dissertation möchte Beiträge bringen zu diesem Teilproblem und zur Physiologie und Pathophysiologie der Fibrinolyse im Blut in Korrelation zur sogenannten Urokinase, jenem Faktor der Fibrinolyse, der mit dem Urin ausgeschieden wird.

Die gegebene Problemstellung war also zu ermitteln, ob im menschlichen Organismus zwischen der Fibrinolyse im Blut einerseits und dem Auftreten von Urokinase im Urin andererseits Zusammenhänge bestehen und ob diese ein Ausdruck bzw. Charakteristikum für pathologische Zustände sind.

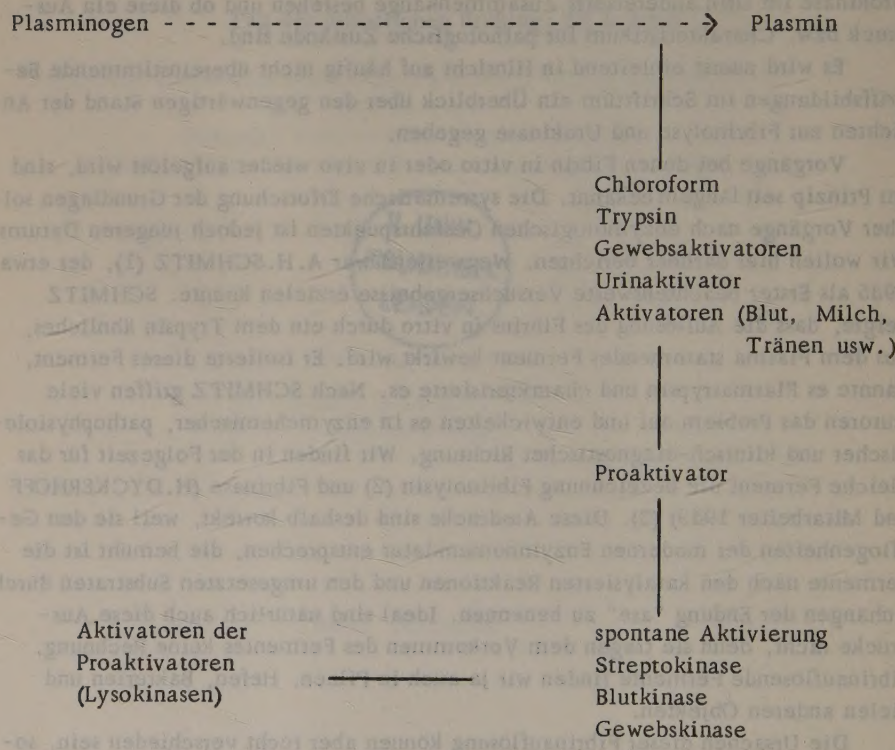
Es wird zuerst einleitend in Hinsicht auf häufig nicht übereinstimmende Begriffsbildungen im Schrifttum ein Überblick über den gegenwärtigen Stand der Ansichten zur Fibrinolyse und Urokinase gegeben.

Vorgänge bei denen Fibrin in vitro oder in vivo wieder aufgelöst wird, sind im Prinzip seit langem bekannt. Die systematische Erforschung der Grundlagen solcher Vorgänge nach enzymologischen Gesichtspunkten ist jedoch jüngeren Datums. Wir wollen hier darüber berichten. Wegweisend war A.H.SCHMITZ (1), der etwa 1935 als Erster beachtenswerte Versuchsergebnisse erzielen konnte. SCHMITZ zeigte, dass die Auflösung des Fibrins in vitro durch ein dem Trypsin ähnliches, aus dem Plasma stammendes Ferment bewirkt wird. Er isolierte dieses Ferment, nannte es Plasmatrypsin und charakterisierte es. Nach SCHMITZ griffen viele Autoren das Problem auf und entwickelten es in enzymchemischer, pathophysiologischer und klinisch-diagnostischer Richtung. Wir finden in der Folgezeit für das gleiche Ferment die Bezeichnung Fibrinolysin (2) und Fibrinase (H.DYCKERHOFF und Mitarbeiter 1949) (3). Diese Ausdrücke sind deshalb korrekt, weil sie den Gepflogenheiten der modernen Enzymnomenklatur entsprechen, die bemüht ist die Fermente nach den katalysierten Reaktionen und den umgesetzten Substraten durch Anhängen der Endung "ase" zu benennen. Ideal sind natürlich auch diese Ausdrücke nicht, denn sie tragen dem Vorkommen des Fermentes keine Rechnung. Fibrinauflösende Fermente finden wir ja auch in Pilzen, Hefen, Bakterien und vielen anderen Objekten.

Die Ursachen dieser Fibrinauflösung können aber recht verschieden sein, sodass also damit nur das Ziel und Ergebnis des Vorgangs gekennzeichnet ist, jedoch nicht Mittel und Wege, die zu diesem Ziele führen. In letzter Zeit hat sich immer

mehr die Nomenklatur skandinavischer und amerikanischer Autoren - Plasmin - durchgesetzt, die darunter jenes proteolytische Fermentsystem verstehen, das im Plasma als Vorstufe gehemmt oder aktiv vorkommt und wohl in erster Linie zuständig ist für Fibrinogen-Fibrinumbau- und -abbau, wobei aber durchaus möglich, wenn auch nicht bewiesen ist, dass auch andere Vorgänge vom gleichen Fermentsystem katalysiert werden. Der Name Plasmin erinnert dabei an die schon oben erwähnte SCHMITZsche Namensprägung "Plasmatrypsin". Er kann durch Silbenzusammenziehung entstanden sein.

Die umfangreichen Studien vieler Autoren zeigten schliesslich, dass es zahlreiche Effektoren für dieses Ferment gibt, sodass hinfort mit Recht von einem System des Plasmins gesprochen werden konnte. Es ist nun bemerkenswert, dass Parallelen mit anderen länger bekannten proteolytischen Enzymsystemen gegeben sind, nämlich mit dem System des Pankreastrypsins und mit dem Thrombinsystem. Die folgende Wiedergabe des von ASTRUP (4) und seiner Schule aufgestellten Schemas zeigt dies eindeutig.



Aktivierungsschema nach Astrup (1954)

Die Aktivatoren, Kinasen, die in vielen biologischen Exkreten z.B. in Blut, Milch, Urin, Speichel, Exsudaten, aber auch in Gewebsextrakten bzw. Homogenaten vorkommen, bewirken die Bildung des aktiven Plasmins. Auch eine Existenz von Proaktivatoren, Stoffen die erst den Aktivator wirksam machen, werden von ASTRUP u.a. angenommen.

Wir halten die Existenz der Proaktivatoren für nicht erwiesen und für das Verständnis der Plasminogenumwandlung auch nicht nötig. Man kann nämlich zur Kritik anführen, dass viele der Proaktivatoren gar nicht stofflich fassbar sind, dass auf deren Existenz nur durch kinetisch messbare Wirkungen geschlossen wird. Auch die Aktivierung einer inaktiven Plasminvorstufe durch organische Lösungsmittel und durch Trypsin sollte aus dem Schema der Gewebskinasen ausgeklammert werden, denn es besteht kein Zweifel, dass die Wirkung dieser Stoffe (z.B. Chloroform, Aceton) auf einer Enthemmung präformierten Plasmins durch Ausschaltung von Hemmstoffen z.B. Serumeiweisskörpern beruht. So ist also die Enzymologie der Fibrinolyse soweit erforscht, dass gefordert werden könnte, die einschlägigen Begriffe wissenschaftlich konkreter zu fassen, d.h. also nicht mehr schlechthin von Fibrinolyse zu sprechen, sondern zu unterscheiden zwischen den der Fibrinolyse zu Grunde liegenden Enzymsystemen und zu berücksichtigen die Organlokalisation fibrinolytischer Faktoren. Es gibt in der Pathologischen Physiologie viele Vorgänge bei denen zwar das Grundprinzip, die Auflösung des Fibrins, sicher signifikant ist, sogar das gemeinsame Prinzip darstellt, aber wegen parallel laufender anderer Reaktionen eine grosse Mannigfaltigkeit resultiert. Als Beispiel könnte hier Erwähnung finden ein Teilvorgang der Infarktbildung, die Koagulationsnekrose. Hier wurde schon vor vielen Jahren von WEIGERT der Ausdruck Fibrinkeil geprägt. Es ist sicher, dass die Vorgänge, die zur Auflösung des Fibrins bei diesem Prozess führen, mit den Vorgängen der Fibrinauflösung bei einem Thrombus in einem Gefässlumen wenig Gemeinsames haben. Wie kommt es zur Lysis eines solchen Fibrinkeiles? Es ist bekannt, dass im Mittelpunkt der Fibrinauflösung bei der Infarktnekrose die sogenannten Organisationsvorgänge stehen, bei denen es sich letztlich um die Tätigkeit von Histiocyten- oder Fibroblasten-Fermenten handelt.

Ein anderes Beispiel ist der Ablauf der kruppösen Pneumonie, vorausgesetzt, dass Sulfonamide beim Patienten nicht Anwendung fanden. Hier ist nach den Ansichten FRIEDRICH von MÜLLERs u.a. das wesentliche Merkmal die Auflösung von fibrinösem Exsudat durch Fermente einwandernder und zerfallender weisser Blutkörperchen. Später wurde allerdings von BAYERLE und H. RÜD (5) gezeigt, dass auch nicht betroffene Abschnitte pneumonisch erkrankter Lungen schon vor der Einwanderung der Leukozyten und deren Zerfall eine gesteigerte proteolytische Aktivität, gemessen an der Gelatinespaltung zeigen.

Ein drittes Beispiel: Die intravasale Auflösung eines Thrombus. Hier ist zweifellos reaktionsbestimmend das proteolytische System des Plasmins. Der Begriff "proteolytisches bzw. fibrinolytisches Potential" wurde seinerzeit von Th. HALSE (6) geprägt.

Dies will besagen, dass das Schicksal des Thrombus bestimmt wird durch die ihn umgebende, umspülende Flüssigkeit, also das Plasma. Von BAYERLE und Mitarbeiter (7) wurde aber darauf hingewiesen, dass das weitere Schicksal eines solchen Thrombus, seine schnell einsetzende Wiederauflösung oder aber die Verhinderung der Lysis mit nachfolgender Organisation schon bestimmt wird in statu nascendi, d.h. die Formelemente des Blutes und die Stoffe, die zum Zeitpunkt der Thrombinbildung absorbiert oder eingeschlossen werden, bestimmen die Zeitdauer, das Ausmass und den Verlauf der Auflösung oder verhindern sie. Zahlreiche andere Beispiele könnten herangezogen werden. Man würde dabei gemeinsame übereinstimmende Prinzipien finden, aber auch Besonderheiten, auf die es wesentlich ankommt.

Das letztgenannte Beispiel zeigt die physiologische und pathophysiologische Bedeutung des Plasminsystems. Sie ist aber sicher viel universeller. Dies geht schon allein daraus hervor, dass das Eiweiss, das Substrat dieses Fermentsystems mit 8 % im Plasma vertreten ist. Dieses Plasmaeiweiss muss im Verlauf normaler physiologischer Prozesse ab- und umgebaut werden. Erst recht aber bei pathologischen Vorgängen, von denen einige oben erwähnt wurden.

So ist auch verständlich, dass das Plasminsystem schon frühzeitig zur klinisch-chemischen Diagnostik herangezogen wurde. Hier zeigte sich aber bald ein Dilemma. Es gibt Vorgänge, bei denen ohne Zweifel eine Korrelation mit dem Plasminsystem festgestellt werden kann.

Es gibt aber auch Vorgänge bei denen solche Korrelationen angenommen werden, aber offensichtlich experimentell nicht fassbar sind, weil sie überlagert sind durch andere, sodass Gesetzmässigkeiten nicht hervortreten können. Schliesslich ist es auch hier wie bei vielen anderen Fällen, dass die Ergebnisse verschiedener Autoren in der gleichen Sache von einander stark abweichen, weil die Untersuchungsmethoden nicht vergleichbar sind. Eine Übersicht über die bisher vorliegende Literatur zeigt, dass ausserdem Fibrinolyse und Plasminsystem als identisch aufgefasst werden. Dies ist aber unseres Erachtens nach den oben gegebenen Erläuterungen bedenklich. Es kann dann möglich sein, dass ein Vorgang als Fibrinolyse erscheint, das Plasminsystem aber nicht betroffen ist und umgekehrt, dass Faktoren des Plasminsystems aktiviert sind, aber die Lysis von Fibrin doch nicht beeinflusst ist. So wird z.B. für das Auftreten hämorrhagischer Diathesen eine erhöhte Fibrinolyse verantwortlich gemacht und auch direkt enzymologisch gemessen; ebenso oft wird aber auch nur darauf geschlossen, weil der Fibrinogenspiegel des Plasmas vermindert ist. Bei einer kritischen Sichtung der Fälle kann aber dann festgestellt werden, dass viele Autoren sich häufig mit einem Nachweis des Prinzips begnügen ohne statistische Gesichtspunkte zu berücksichtigen. Man findet dann Abläufe von Krankheitszuständen bei denen Erscheinungen der erhöhten Fibrinolyse mit einer Fibrinogenverminderung und einer Diathese vorliegen können aber nicht müssen.

Auch daraus geht hervor, dass es auf eine Vielzahl von Einzelfaktoren ankommt und dass es nötig ist, die zahlreichen pathologischen Einzelfälle unter Gesichtspunkten einer Normenfeststellung zu untersuchen. Dies aber soll im Hinblick auf das Plasminsystem einer der Programmpunkte der vorliegenden Dissertation sein.

Unter den Aktivatoren des Plasminsystems nimmt die im Urin vorkommende Kinase, von GUEST (8) Urokinase genannt, eine besondere Stellung ein, weil sie offensichtlich physiologisch bedeutend ist und zu den wirksamsten Vertretern dieser Stoffgruppe gehört. Vor ihrer Auffindung kannte man nur die Streptokinase als Aktivator der Plasminogenumwandlung. Es war immer erstaunlich, warum dieses körperfremde Stoffwechselprodukt von Mikroorganismen eine so starke Beteiligung an den physiologischen Umwandlungsprozessen des Plasminogens haben sollte. Mit der Auffindung der Urokinase und ähnlich wirksamer Gewebskinasen ist der Streptokinase die Sonderstellung genommen worden. Es ist verständlich, dass in den wenigen Jahren seit der Entdeckung der Urokinase zahlreiche Untersuchungen sich mit der Frage ihres Bildungs- und Ausscheidungsmechanismus, ihrer chemischen Natur und ihrer Bedeutung bei solchen Vorgängen befassten, bei welchen das Plasminsystem betroffen ist. Um die stoffliche und chemische funktionelle Aufklärung der Urokinase machten sich - um nur die wichtigsten Namen von Forschern zu erwähnen - CELANDER und GUEST (9), ASTRUP und STERNDORF (10), SGURIS (11), SHERRY und ALKJAERSIG (12), PLOUG und KJELDGAARD (13), DOLESCHEL und AUERSWALD (14) verdient. Nach der Untersuchung dieser Autoren, die sich der Methoden der Säulenchromatographie mit verschiedenen Adsorbentien, der Anwendung von Eluierungsmethoden, der Elektrophorese und Dialyse und ähnlicher Methoden bedienten, handelt es sich bei der Urokinase um wasserlösliche Proteine, deren Aktivität in einem breiten pH-Bereich erhalten bleibt, einen beachtlichen Widerstand gegen Hitzedenaturierung zeigt, wobei sie im sauren Bereich am labilsten sind und im Urin rasch zerstört werden. Trotz der Reinigung sind aber die Präparate, wie die Elektrophoreseversuche zeigten, nicht homogen. Die Maximalaktivität scheint an den α- und ß-Globulinanteilen zu hängen. Der enzymatische Charakter der durch die Urokinase bewirkten Umwandlung von Plasminogen in Plasmin wurde erwiesen. Es wurde aber auch gezeigt, dass Urokinasepräparate auch gegen andere Proteine, so z.B. Kasein, proteolytisch wirksam sind, ja dass möglicherweise die Aktivierung des Plasminogens selbst eine Art Proteolyse sein könnte. Das pH-Optimum dieser Umwandlung wurde bei pH-9 liegend erkannt. Schliesslich konnte gezeigt werden, dass Urokinase auch die Proteolyse an Protamin-Heparin-Komplexen, die Hydrolyse von Arginin und Lysinestern im Sinne einer Esterase bewirken kann.

Es wird an solchen Versuchen u.E. deutlich, dass Urokinasepräparate von solch mannigfacher Funktion noch nicht als einheitlich bezeichnet werden können. Die Labilität der Urokinase bei sauerem pH wird auf die Gegenwart von Pepsinasen im Urin zurückgeführt. Zur Frage der biologischen Wirksamkeit konnte gezeigt wer-

den (CELANDER und GUEST) (l.c.), dass die isolierte Urokinase einer Tierart bei einer anderen Tierart als Antigen wirkt.

Vom klinischen Standpunkt aus betrachtet, verdient besondere Beachtung die Frage nach einer Organlokalisation und Herkunft und nach der Ausscheidung. Darüber publizierten BJERREHUUS (15), von KAULLA (16), SMYRNIOTIS und Mitarbeiter (17). Ergebnisse wie die oben beschriebenen, müssen wie GUEST und CELANDER (l.c.) bewiesen, skeptisch bewertet werden, weil mit dem Urin auch Stoffe ausgeschieden werden, die die Urokinase hemmen und weil zwei Kinasen stofflich nachweisbar sind und es nicht möglich ist festzustellen, ob beide Typen bei verschiedenen Personen gleichmässig vorkommen und ausgeschieden werden. Mit anderen Worten: Es können nach GUEST und CELANDER bei der Bestimmung der Urokinaseausscheidung Fehlermöglichkeiten auftreten, die dann bedeutsam sind, wenn es sich um Vergleiche von pathologischen Zuständen mit Normalfällen handelt.

Nach unserer eigenen Erfahrung und Meinung darf die Kritik CELANDERs und GUESTs nicht überbewertet werden, denn es ist ja so, dass man bei allen klinisch-chemischen Fermenttesten die Abweichungen von Normalwerten feststellt und dabei die Summe von Aktivatoren und Inhibitoren miterfasst.

Zustände, bzw. Massnahmen, die eine Veränderung der Urokinaseausscheidung bewirken, sind beschrieben worden (CELANDER und GUEST) (l.c.). So scheint es diätetische Faktoren zu geben, die dies vermögen (z.B. kochsalzfreie Kost). Körperliche Anstrengungen führen nach der Untersuchung der genannten Autoren zu einem Anwachsen der fibrinolytischen Aktivität im Plasma und gleichzeitig auch zu einer fortschreitenden Steigerung der Urokinaseausscheidung. Es läge somit hier ein Fall einer Parallelität von Fibrinolyse im Blut und Kinaseausscheidung im Urin vor, wie wir ihn bei unseren eigenen Untersuchungen zu prüfen wünschten. Dass die Urokinase auch geeignet ist, die Einheitlichkeit von Thrombin und Fibrinogen zu prüfen (CELANDER und GUEST) sei am Rande vermerkt. Solche Versuche rechtfertigen die Versuchsanordnung bei unseren Experimenten, bei denen es ja auch auf Beobachtung der Aktivität des Plasminsystems durch das zugehörige und entsprechende Kinasesystem des ausgeschiedenen Urins ankommt.

Zur Frage der Beeinflussbarkeit der Urokinaseausscheidung referieren wir die Arbeit von SEELICH und Mitarbeitern (17). Diese Autoren fanden, dass eine subcutane Injektion von Hyaluronidase eine mehrstündige Hemmung der fibrinolytischen Aktivität des Harns bewirkte, während der Zusatz derselben Substanz direkt zum Harn keinen Einfluss hatte. Es sind die Untersuchungen SEELICHs und Mitarbeitern wohl die ersten gewesen, die auf mögliche Zusammenhänge des Kinaseeffektes mit einer Stoffwechsellage Hinweise gaben.

Über quantitative Veränderungen der Urokinaseausscheidung im Urin als Ausdruck einer physiologischen oder pathophysiologischen Stoffwechsellage sind zwar Vermutungen ausgesprochen und auch orientierende Versuche durchgeführt worden. Die erzielten Ergebnisse waren aber nicht befriedigend. Besondere Beach-

tung verdient hier im Zusammenhang mit eigenen Untersuchungen eine Arbeit von WILLIAMS (18) auf die aber im nachfolgenden Abschnitt näher eingegangen wird.

Nach den allgemeinen Erläuterungen der vorgehenden Abschnitte wird nachfolgend berichtet über eigene experimentelle Untersuchungen über die Fragestellungen und die angewendeten Methoden und über die Ergebnisse.

I.

In vitro-Versuche über Fibrinolyse im Serum und in wässrigen Lösungen in Beziehung zur Urokinaseausscheidung- und -aktivität.

Was besonders interessierte, war die Frage nach einer Koppelung des Plasminspiegels im Blut mit der Urokinaseaktivität und die Suche nach Gesetzmässigkeiten bei der Ausscheidung. Verschiedene Zusammenhänge sind diskutabel:

1. Die Urokinase ist ein Anteil der Plasma- oder Gewebsfibrinokinase, der durch die Niere in den Harn übertritt. Ein erhöhter Verbrauch dieser Kinasen, erhöhte Funktion im Verlauf der Plasminogenaktivierung könnte dann vielleicht auch eine in der Quantität variierende Ausscheidung bewirken.

2. Die Urokinase ist ein Stoffwechselprodukt, dessen ausgeschiedener Anteil zwar mengenmässig erfassbar ist, aber nicht in einen Zusammenhang mit einer Stoffwechsellage gebracht werden kann. Die ausgeschiedene Menge ist grösseren Schwankungen unterworfen, ihre Herkunft ist nicht eindeutig festzulegen, weil es zahlreiche Kinasen in vivo gibt, die nicht stofflich zu charakterisieren sind.

3. Die Urokinaseaktivität ist ein Ausdruck für die Nierenfunktion.

4. Die Urokinase stammt aus Zellstrukturen der Niere und ist als Abfallprodukt zu werten.

Über diese Fragen ist zur Zeit keine eindeutige Antwort möglich. Dies hängt vor allem damit zusammen, dass die Urokinase, wie übrigens auch viele andere Faktoren des Plasminsystems routinemässig nur durch ihre Kinetik, durch ihre Wirkung und nicht durch ihre stofflichen Eigenschaften erfassbar ist. Für die eigenen Experimente verwendeten wir die nachfolgend beschriebenen Verfahren zur Ermittlung der Fibrinolyseaktivität und der Urokinase.

A. Verfahren zur quantitativen Fibrinolysebestimmung.

Die Verfahren sind bei den verschiedenen Autoren uneinheitlich. Wir vertreten den Standpunkt, dass, auch wenn die Fibrinolyse ein komplexer Vorgang ist, bei jedem Verfahren die messbare Auflösung des Fibrins im Mittelpunkt stehen sollte. Nur die Messung oder Beobachtung der Veränderung des Substrates Fibrin ist ein einwandfreier Maßstab für den Gesamtvorgang. Es soll dabei, so weit nur irgend möglich, ein Fibrin verwendet werden, das frei von anderen Faktoren, jedenfalls frei von Formelementen ist. Das Kriterium der Auflösung müsste die Veränderung des Fibrinsubstrates sein. Es ist bedenklich, wenn als Maßstab der Fibrinolyse an-

dere Faktoren z.B. die Viskositätsänderung in einem Plasma-Substratsystem herangezogen werden. Diese Viskositätsänderung kann ja andere Ursachen haben, man würde dann bestenfalls die Fibrinogenolyse messen. Es ist auch unangebracht als Maßstab einer Fibrinolyse die Freilegung von Erythrocyten aus einem Vollblutkoagulum zu nehmen. Hier ist es denkbar, dass schon geringfügige Veränderungen des physikalischen Aggregatzustandes des Fibringels die Haftfestigkeit der Erythrocyten vermindert, während im chemischen Sinne von einer Lysis des Fibrins noch nicht die Rede sein kann.

Die Lysis kann nur auf der Basis der Sprengung von Peptidbindungen, also der Bildung von Fibrinopeptiden beruhen. Es muss auch als bedenklich bezeichnet werden, wenn die Auflösung von Kasein, also einem anderen Substrat, als Maßstab genommen wird. Dies setzt voraus, dass Kasein in gleicher Weise wie Fibrin als Substrat dienen kann. Dies ist aber anzuzweifeln. Auch die nur visuelle Registrierung der Verflüssigung eines Vollblutkoagulums, als Ausdruck für die Fibrinolyse ist fehlerhaft. Auch hier könnte es sich nur um eine oberflächliche Änderung eines Aggregatzustandes des Fibringels handeln. Es bleiben somit nur wenig Bestimmungsmethoden zur Auswahl übrig.

Zu den häufigst angewendeten Methoden gehört die sogenannte Fibrinplattenmethode von ASTRUP und Mitarbeitern (20). Die sehr zahlreichen und aufschlussreichen Ergebnisse dieser Autoren wurden mit der genannten Methode erzielt. Nun hat jede Methode Grenzen der Anwendbarkeit und der Leistungsfähigkeit. Uns scheint bei der Fibrinplattenmethode als Nachteil die flächenmässige Messung der Auflösungszone des Fibrins an Stelle einer genauen chemisch-analytischen Messung der Zunahme der Spaltprodukte oder der Abnahme des Substrates Fibrin. Ferner ist bei dieser Methode nachteilig die Beschränkung der Einwirkung des Fermentes auf nur eine Dimension der Fläche. Schliesslich ist ein Nachteil die Abhängigkeit von der Qualität des Fibrinogenpräparates, dessen Gehalt an Plasminogen von wesentlicher Bedeutung ist.

Wir haben bei der Anwendung selbsthergestellter Fibrinogene, ferner von solchen der Firma Behring und der Armour-Corporation recht interessante Unterschiede in den Untersuchungsergebnissen feststellen können. Andererseits können mit ein und demselben Präparat, wenn es in genügender Menge zur Verfügung steht recht gute Übereinstimmungen erzielt werden. Eine andere Arbeitsweise, die wir auch verwendeten ist die von BAYERLE und Mitarbeitern (21), die hier erläutert werden muss. Drei gleiche Proben (1,0 ml) von menschlichem Zitratplasma, nachfolgend bezeichnet als a, b, c, werden in Reagenzgläsern rekalzifiziert. Dabei wird gleichzeitig die Rekalzifizierungszeit beobachtet und registriert. Zehn Minuten nach Gerinnungseintritt wird aus den Proben a und c das gebildete Fibrin quantitativ unter Anwendung eines Drahthäkchens entnommen. Die beiden Fibrinkoagula werden hierauf durch Auspressen mit einem Gummistopfen unter Anwendung von 2,0 ml NaCl 0,9 % und Einhalten einer festgelegten Zeit von einer

Minute gewaschen. Dieser Vorgang wird dreimal wiederholt. Das Fibrin der Probe a wird hierauf zweimal mit ca. 2,0 ml Aceton (purissumum H_2O frei), dann einmal mit 2,0 ml Aceton-Äthermischung 1 : 1 und einmal mit 2,0 ml Äther behandelt und im Exsikkator getrocknet. Systematische Untersuchungen zeigten, dass die Zeitdauer der Trocknung nicht von Einfluss auf das Ergebnis ist. Nach Trocknung (wobei eine Wägung des Fibrins eingeschaltet werden kann) wird das Fibrin in 2,0 ml m/15 Phosphatpufferlösung von pH 7,8 gebracht und der Fortgang, sowie die Beendigung der Fibrinauflösung registriert. Das Fibrin des Ansatzes c wird ohne die beschriebene Aceton-Ätherbehandlung in 2,0 ml Phosphatpufferlösung gegeben und auch hier Verlauf und Endpunkt der Auflösung registriert. In allen Fällen ist die Versuchstemperatur 37 Grad Celsius. Für eine Sterilität der Ansätze wurde durch Hinzufügen eines kleinen Tropfens Toluol Sorge getragen.

B. Verfahren der Urokinasebestimmung.

Das Prinzip der Bestimmungsmethode der Urokinase ist bei den verschiedenen Bearbeitern ziemlich übereinstimmend. Es beruht auf der enzymologischen Funktion der Plasminogenaktivierung. Darnach gibt man das zu untersuchende Präparat oder die entsprechend vorbereitete Urinprobe zu einer plasminogenhaltigen Fibrinogenlösung, bringt diese durch Thrombin zur Gerinnung und beobachtet die Beschleunigung der Fibrinauflösung im Vergleich zu einem entsprechenden Ansatz ohne das Uronikase enthaltende Präparat. Ebenso kann Plasma mit urokinasehaltigem Material gemischt und anschliessend rekalzifiziert werden. Die Auflösung der entstandenen Gallerte kann visuell verfolgt werden, z.B. durch Ermittlung des Zeitpunktes der totalen Lysis oder es kann hier durch eine kolorimetrische Bestimmung der entstehenden Spaltprodukte die Lysis zeitlich verfolgt werden.

Im einzelnen gehen wir folgendermassen vor: 3 Proben von je 1,0 ml Citratplasma von Patienten werden mit 0,25 ml Harn des Plasmaspenders bzw. mit einem Acetonpräparat aus 0,25 ml Harn versetzt. Diese Mischung wird eine Minute bei 37 Grad inkubiert und hierauf mit 1,0 ml $CaCl_2$-Lösung rekalzifiziert. Nach 10 Minuten werden die 3 Ansätze wie oben geschildert weiterverarbeitet. Also Versuch a: Fibrin wird aus dem Urin-Urokinase-haltigen Plasma entfernt, gewaschen und mit Aceton getrocknet; Versuch c: Fibrin wird entfernt, gewaschen und mit Pufferlösung inkubiert; Versuch b: Das System bleibt unverändert sich selbst überlassen.

Das zu beobachtende Versuchsergebnis ist folgendes: In allen Fällen bei denen zum Plasma kinasehaltiges Material, hier Urokinase, zugesetzt wird, zeigt sich eine Beschleunigung der Fibrinauflösung, die aber von Fall zu Fall verschieden stark ist. Bei den Ansätzen a und c wird der an das Fibrin adsorptiv gebundene Anteil der Kinase während der Versuchszeit wirksam oder die während der einminütigen Inkubation gebildete Plasminmenge wird aktiv. Bei b wird die Umwandlung des Plasminogens fortlaufend vollzogen, solange Aktivator und Plasminogen vorliegen. Die Beschleunigung der Fibrinauflösung ist dabei beträchtlich; sie ist

besonders deutlich bei den Ansätzen b und c. Auch die Rekalzifizierung der beiden Ansätze wird durch die Urinpräparate beeinflusst.
Wir fanden in den überwiegenden Fällen eine Verzögerung, die in keinem ersichtlichen Zusammenhang mit dem Krankheitsfalle steht. Diese Verzögerung ist häufig nur bei der Anwendung von unverändertem Urin, nicht aber von Urin-Acetonpräparaten zu beobachten. Die Präparate bewirken sogar eine Verkürzung der Rekalzifizierungszeit, welche zweifellos auf thromboplastisch wirkende Substanzen zurückzuführen ist.

Wir bringen nun in Form einer tabellarischen Übersicht (Tabelle I), die Versuchsergebnisse und erläutern sie anschliessend. Die Zahlen in der Tabelle bedeuten die Lysiszeit in Stunden, gemäss den oben angegebenen methodischen Erläuterungen. Dabei finden sich in der 6, 7 und 8 senkrechten Spalte (au, bu und cu) die Ergebnisse für die urokinasehaltigen Ansätze. Die Fälle sind nicht unter Gesichtspunkten der klinischen Diagnosen, vielmehr in der zeitlichen Reihenfolge der Untersuchung geordnet. Für die zur Diskussion der Versuche nötige Beurteilung der Werte einer beschleunigten, mässigen oder geringgradigen Fibrinolyse bzw. Plasminwirkung gehen wir von unseren Erfahrungen bei zahlreichen befundfreien Fällen aus. Demnach liegt bei Anwendung unserer oben erläuterten Versuchsmethodik eine normale Fibrinolyse dann vor, wenn die Lysiszeiten die folgenden sind:
Bei Versuchsansatz a: 10 - 16 Stunden
Bei Versuchsansatz b: 48 - 144 Stunden
Bei Versuchsansatz c: 24 - 72 Stunden
Eine beschleunigte (gute) Fibrinolyse liegt vor, wenn die Lysiszeit
Bei Ansatz a: < 10 Stunden
Bei Ansatz b: < 48 Stunden
Bei Ansatz c: < 24 Stunden
Eine mässige (geringgradige) Fibrinolyse liegt vor, wenn die Lysiszeit
Bei Ansatz a: > 16 Stunden
Bei Ansatz b: > 144 Stunden
Bei Ansatz c: > 72 Stunden
beträgt.
Bei den Versuchen mit zugesetzter Urokinase liegt eine normale Fibrinolyse vor bei den Werten:
ua: 4 - 10 Stunden
ub: ca. 48 Stunden
uc: ca. 24 Stunden
Eine beschleunigte (gute) Fibrinolyse liegt vor bei Werten:
ua: < 4 Stunden
ub: < 48 Stunden
uc: < 24 Stunden

Eine mässige (geringgradige) Fibrinolyse liegt vor bei Werten von
ua: >10 Stunden
ub: >48 Stunden
uc: >24 Stunden
Es ist uns bewusst, dass diese Angaben der Lysiszeit sich zwar nicht mit quantitativen Werten messen können, aber doch auf Grund sehr umfangreicher Versuche hinreichend exakte Aussagen erlauben.

TABELLE I

Protokoll-Nr.	Diagnose	Lysiszeit in Stunden						Rekalzifiz. Zeit d. Citratplasmas	
		a	b	c	au	bu	cu	ohne	mit Urin
1.	Rectum	15	44	44	15	44	40	4'5"	14'15"
2.	Uterus-Ca	15	72	72	15	44	44	3'54"	
3.	Ovarial-Ca	24	72	72	4	15	15	3'50"	6'30"
4.	Portio-Ca	48	72	72	18	72	28	4'20"	6'30"
5.	Adeno-Ca	20	72	72	15	72	20	4'20"	6'58"
6.	Uterus-Ca	44	44	44	6	44	18	2'53"	5'30"
7.	Lungen-Ca	44	44	44	6	44	18	5'22"	5'59"
8.	Leber-Ca	44	44	44	28	44	20	3'46"	4'40"
13.	Chron. Cholecyst.	40	120	110	4	110	16		
14.	Struma	32	110	70	4	44	18		
22.	Struma	70	96	144	4	70	18	3'02"	7'52"
23.	Appendicitis	70	120	144	4	170	16		
24.	Ikterus juv.	18	90	64	4	70	18	6'30"	8'38"
25.	Hernie	36	96	48	4	120	20	5'22"	
26.	Rectum-Ca	20	96	48	4	28	18	3'12"	5'18"
27	Magen-Ca	4	20	4	4	4	4		
32.	Nabelbruch	48	48	120	5	64	18	3'33"	12'30"
33.	Leistenbruch	64	120	140	6	16	14	3'33"	
34.	Milzexstirpation	18	96	80	5	80	20	3'30"	4'00"
35.	Pankreas-Ca	38	38	96	20	44	44	4'00"	3'00"
36.	Lebercirrhose	28	84	96	18	96	20	5'42"	7'16"
39.	Pankreas-Ca	18	36	30	5	40	19	3'41"	5'11"
40.	Ulcus ventr.	17	72	40	5	5	5	3'13"	5'33"
41.	Fraktur	24	96	96	6	20	6	4'16"	5'32"
42.	Leber-Ca	48	80	72	5	96	18	5'11"	5'58"
43.	Struma	32	120	120	4	18	5	4'50"	25'00"

TABELLE I

Protokoll-Nr.	Diagnose	Lysiszeit in Stunden						Rekalzifiz. Zeit d. Citratplasmas	
		a	b	c	au	bu	cu	ohne	mit Urin
44.	Chron. Appendicitis	30	120	64	4	110	12	4'22''	4'50''
45.	Amputation	34	148	16	5	37	18	5'06''	7'22''
46.	Colon-Ca	25	82	17	16	110	36	10'48''	29'00''
47.	Cholecystit.	32	96	72	17	72	18		
48.	Chron. Hepatitis	18	72	120	4	48	20		
49.	Pankreatitis	12	64	60	10	96	12	3'06''	4'22''
50.	Cholecystit.	12	62	38	3	56	12	3'26''	4'56''
51.	Magen-Ca	12	120	28	4	72	64	2'14''	5'04''
52.	Rectum-Ca	28	96	72	4	72	12	2'00''	7'48''
53.	Distorsion	29	120	140	14	120	72	7'23''	5'31''
54.	Schenkelhalsbruch	36	87	144	12	12	12	5'38''	7'13''
56.	Rectum-Ca	12	64	144	4	32	13	8'54''	7'26''
57.	Leber-Ca	12	144	144	4	12	12	5'52''	10'54''
58.	Appendicitis	12	120	72	8	120	12	3'52''	6'22''
59.	Appendicitis	40	130	120	12	40	30	7'15''	25'00''
60.	Neurofibrom	72	120	120	4	16	12	4'22''	10'53''
61.	Diabetes	72	120	128	16	70	20	6'54''	
62.	Lebermetastasen	20	72	66	20	72	60	20'00''	
63.	Rectum-Ca	66	72	70	60	78	72	3'55''	5'00''
64.	Uterus-Ca	46	90	72	4	17	8		
66.	Pankreas-Ca	38	64	64	30	72	58		
67.	Rectum-Ca	40	64	40	12	40	18		
69.	Prostatahypertrophie	40	72	40	3	72	12	2'44''	2'92''
68.	Magen-Ca	36	62	96	16	80	38	3'16''	3'56''
76.	Ulcus ventr.	14	14	14	8	26	16	3'29''	5'11''
78.	Abortus	40	90	42	4	120	12	2'52''	
79.	Ulcus duod.	12	40	40	12	120	24	3'00''	
80.	Lungen-Tbc	40	64	64	12	90	40	3'33''	2'51''
81.	Myom	36	144	144	4	140	12	3'30''	
82.	Abortus	52	120	90	12	144	36		
83.	Ovarialcyste	40	144	72	12	120	4	3'19''	6'51''
84.	Uterus-Polyp	14	120	48	4	16	8	5'20''	11'36''

Es ist nun an Hand des in der Tabelle I vorliegenden Zahlenmaterials und der oben gegebenen Erläuterungen ein Urteil bezüglich unserer Fragestellung zu bilden. Es handelt sich um die Feststellung einer Korrelation Fibrinolyse im Blutplasma und Kinase im Urin. Wir glauben, dass eine solche annähernd ermittelt werden kann durch den Vergleich der Fibrin-Lysiszeiten bei den Versuchen a im Vergleich zu au, b im Vergleich zu bu und c im Vergleich zu cu. Der Vergleich und die Differenz ermöglichen ein Gesamturteil. Je grösser die Differenz zwischen den Werten a - au, b - bu und c - cu, desto beachtlicher ist der Kinaseeffekt.

Folgende Kombinationen sind möglich:

1. Eine beschleunigte d.h. über der Norm liegende Fibrinolyse steht einer gesteigerten Kinasewirkung gegenüber.
2. Eine beschleunigte Fibrinolyse steht einer geringen Kinasewirkung gegenüber.
3. Eine mässige Fibrinolyse, kombiniert mit geringer Kinasewirkung.
4. Eine mässige Fibrinolyse, kombiniert mit gesteigerter Kinasewirkung.

Wir finden ohne Berücksichtigung des Krankheitsbildes und Verlaufs im Plasma unter 57 Fällen

17 (= 29 %) mit beschleunigter Fibrinolyse,

28 (= 49 %) mit gesteigerter Kinase,

also keine Parallelität.

Von denselben 57 Fällen zeigen die Kombination

(1) = 18 %

(2) = 12 %

(3) = 39 %

(4) = 32 %

Bei einem nur unwesentlich überwiegenden Teil ist also eine geringgradige Fibrinolyse mit einer geringen Kinasewirkung koordiniert. Die übrigen prozentualen Anteile verteilen sich auf die anderen Kombinationen.

Die Prüfung ob eine Kombination bei einer Krankheitsgruppe gehäuft auftritt, ergab keine Regel. Im Hinblick auf Arbeiten von SCHULER und TEUSCH, BÜCHNER u.a. (siehe unten), die einen Zusammenhang zwischen Geschwulstwachstum und gesteigerter Fibrinolyse annahmen, haben wir auf die Krebsfälle in unserem Untersuchungsmaterial besondere Aufmerksamkeit verwendet. Von den 57 Fällen waren 33 frei von Malignomen. Bei 24 Fällen waren, wie die Tabelle zeigt, bösartige Prozesse verschiedener Art beteiligt. Von den 33 carcinomfreien Fällen zeigten gute Kinasewirkung 61 %. Von den 24 Geschwulstfällen nur 42 %. Hinsichtlich Fibrinolyse waren die Zahlen 24 % bzw. 29 %. Somit zeigen die Geschwulstfälle in eindeutig überwiegender Anzahl geringe Kinasewirkung. Wenn wir die Kombinationen (1), (2), (3), (4) unter dem Gesichtspunkt der Bösartigkeit einander gegenüberstellen, finden wir, dass (3) - also schlechte Fibrinolyse geringe Kinase bei Nicht-Ca-Fällen mit 27 % und bei Ca-Fällen mit 46 % vertreten ist.

Man könnte darin, zusammen mit dem Befund verminderter Kinase einen Hinweis

auf verminderte Aktivität der Fibrinolysefaktoren erblicken. Dies ist ein Widerspruch zu den zitierten Arbeiten von SCHULER, TEUSCH u.a., die ja, basierend auf ausgedehntem Untersuchungsmaterial, die sogenannten Nitsche-positiven-Reaktionen als Ausdruck gesteigerter Fibrinolyse bewerten. Hierzu möchte man den Standpunkt einnehmen, dass bei Betrachtungen über pathologische Zustände die Einbeziehung des proteolytischen Systems von Geweben und Ausscheidungen eine Gleichung mit vielen Unbekannten ist. Alle proteolytischen Systeme sind ja bekanntlich enzymologisch sehr vielseitig.

Unsere Problemstellung erfuhr vor einiger Zeit durch WILLIAMS und Mitarbeiter(19) eine Bearbeitung. Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht die Frage nach der Herkunft des Urofibrinolysins. Für WILLIAMS war zunächst die fibrinolytische Aktivität des Urins und die Existenz eines Fermentes "Urofibrinolysin" ziemlich identisch. Nicht übereinstimmende, widersprechende Ergebnisse über dieses Thema veranlassten aber WILLIAMS verschiedene Ursachen der fibrinolytischen Aktivität des Urins zu diskutieren und entsprechend Experimente auszuführen. Die diskutierten Möglichkeiten sind folgende:

1. Das zugrundeliegende Enzym des Harns ist identisch mit dem Plasmin des Blutes, das als solches, oder als dessen Vorstufe Plasminogen mit dem Harn ausgeschieden wird. Bei der Passage des Nierentraktes würde das Plasminogen zu Plasmin aktiviert werden.
2. Die Urinproteinase ist nicht Plasmin sondern Trypsin, das im Blut durch Serumantitrypsin gehemmt vorliegt und nach Abtrennung von seinen Antikörpern durch die Nieren ausgeschieden wird.
3. Urofibrinolysin existiert gar nicht. Die durch Urin verursachte Fibrinolyse ist auf eine Urokinase zurückzuführen, welche das Plasmin des aus methodischen Gründen verwendeten Fibrins aktiviert.

Diese drei Fragestellungen führten WILLIAMS schliesslich noch zu einer vierten, unsere eigene Fragestellung besonders tangierenden, nämlich, ob unmittelbare Zusammenhänge zwischen fibrinolytischer Aktivität des Urins und des Blutes bestehen. Und nun die Ergebnisse WILLIAMS:

Urine von 53 Patienten mit verschiedenen, nicht genannten Krankheiten und von 13 Schwangeren zeigen eine f i b r i n o l y t i s c h e Aktivität, jedoch keine p r o t e o l y t i s c h e Aktivität gegenüber Azocoll. Azocoll ist ein speziell präpariertes Substrat für die Untersuchung von Trypsinwirkungen. (Methode der Trypsinbestimmung nach OAKLEY, WARRAK, van HEYNNGEN, TODT). Ferner eine Vermehrung der Plasminaktivität im Blut des Menschen, hervorgerufen durch Adrenalininjektionen führt nicht gleichzeitig auch zu einer Vergrösserung der proteolytischen Aktivität des Urins.

Andererseits: eine Vermehrung der tryptischen Aktivität im Harn von Kaninchen nach intravenöser Injektion eines Trypsinpräparates hat nicht gleichzeitig auch eine Vermehrung der fibrinolytischen Aktivität zur Folge. Auch die operative

Entfernung des Magens oder der Milz, des Duodenums und des Pankreas, von Organen also, die mit Bildung und Ausschüttung proteolytischer Fermente oder deren Faktoren zu tun haben, führt nicht zu einer Verminderung der fibrinolytischen Aktivität des Urins. Auch nach WILLIAMS ist für die fibrinolytische Aktivität des Urins eine Kinase verantwortlich, die möglicherweise aus dem Renaltrakt kommt. Im Gegensatz zu WILLIAMS setzt R. SCHULER (22) die proteolytische Aktivität des Urins mit jener des Plasmas gleich. Für SCHULER ist die Urinproteolyse gleichbedeutend mit dem Ferment Plasmin. Wir werden auf die Ansichten R. SCHULERs im II. Teil dieser Arbeit näher eingehen und zitieren hier nur um die Problematik der Fragestellung hervorzuheben.

Eine Analyse unserer Versuchsergebnisse wie wir sie oben vornahmen, beweist, dass im Gegensatz zu verschiedenen Angaben in der Literatur mit der angewendeten Methode der Fibrinolyse und Urokinase-Bestimmung eine Korrelation der fibrinolytischen Aktivitäten von Blutplasma und Urin nicht zu erkennen ist.

Es müsste in Fortsetzung unserer Versuche eine Variation der Experimente vorgenommen werden, indem an ein und demselben Patienten über längere Zeit hinweg beide Faktoren gleichzeitig bestimmt werden, wenn möglich auch bei gleichzeitiger Variation der technischen Bestimmungsmethoden.

II.

In vitro Versuche über Fibrinolyse im Serum und wässrigen Medium und ihre Beziehung zur proteolytischen Aktivität im Harn.

In diesem 2. Teil berichten wir über Untersuchungen zur Frage, ob im Harn proteolytische Fermente dann vermehrt ausgeschieden werden und nachweisbar sind, wenn im Serum eine erhöhte Aktivität des Plasminsystems nachweislich ist; anders formuliert: Ob eine Korrelation zwischen Proteolyse im Serum und Proteolyse im Harn besteht.

Diese Fragestellung ergab sich durch Untersuchungen, die von H. BAYERLE und Mitarbeitern (23) zur Kritik der sogenannten Nitschekomplexreaktion durchgeführt wurden. Mit Hilfe dieser Reaktion soll man nach Angaben der Literatur durch Nachweise einer Proteolyse eines Fibrinsubstrates mit Urinpräparaten auf das Vorliegen pathologischer Prozesse, besonders von Malignomen schliessen können.

Es lohnt sich auf den Fragenkomplex der Nitschekomplexreaktion einzugehen, weil mehrere Autoren den Standpunkt vertreten, dass eine praktische Anwendung dieser Reaktion zur Diagnose und Differentialdiagnose der Malignome möglich sei. Diese Ansicht wird gestützt durch zahlreiche positive und richtig negative Ergebnisse. So hat W. TEUSCH (24) nicht weniger als ca. 10 000 Fälle mit Erfolg untersucht. Andere Autoren wie z.B. R. SCHULER (25) bestätigen die Ergebnisse TEUSCHs. Kürzlich wurde durch BAYERLE und Mitarbeiter (26) auf die

Grenzen der Anwendbarkeit hingewiesen. Abgesehen von der Frage der praktischen Anwendbarkeit, ist aber die wissenschaftliche Seite des Problems ungeklärt geblieben. R. SCHULER wie W. TEUSCH ein Befürworter der praktischen Anwendung der Nitschekomplexreaktion bemühte sich im besonderen Masse um die Enzymologie dieser Reaktion. Er kam zu dem Schluss, dass die Nitsche-Reaktion ein Ausdruck für Fibrinolyse-Plasmin-Aktivität sei, dass die Urinfermente, welche die Nitschereaktion positiv machen, identisch sind mit ausgeschiedenem Plasmin beziehungsweise Plasminogen.

Diese Konkretisierung der Aussage läuft auf einen unmittelbaren Zusammenhang mit der eigenen Fragestellung dieser Arbeit hinaus. Wir haben daher entsprechende Untersuchungen im Zusammenhang mit der Nitschekomplexreaktion durchgeführt und bringen die Ergebnisse in Tabelle II.

Die Frage war also, ob in Krankheitsfällen mit experimentell feststellbarer erhöhter Plasmin-Plasminogen-Aktivität des Serums oder Plasmas auch die nach der Vorschrift der Nitschereaktion gewonnenen Urinniederschläge Plasmin enthalten und gleichzeitig Nitschereaktion - positiv sind und umgekehrt, ob Nitschereaktion - negative Urine eine geringere oder gar keine Plasminaktivität zeigen.

Bei der experimentellen Durchführung bedienten wir uns bezüglich des Plasminsystems der schon oben ausführlich beschriebenen Arbeitsweise. Der Nachweis des Plasmins oder des Plasminogens im Harnacetonniederschlag wurde, wie nachfolgend beschrieben, ausgeführt.

Fibrinogen (Firma Behring) wurde gelöst. 2,0 ml Fibrinogenlösung (enthaltend 8,0 mg) wurde in einem Reagenzglas mit Thrombin zur Gerinnung gebracht und 40 Minuten bei 85 Grad erhitzt. Hierauf wurden zugefügt 10 mg eines Acetonniederschlages aus Urin, gelöst in NaCl 0,9 %. Es wurde die Auflösungszeit des Fibrins beobachtet. Sie ist wie die nachfolgende Tabelle II zeigt meistens $>$ 96 Stunden. Die beginnende und schliesslich völlige Lysis nach dieser Zeit führen wir auf die lange und daher Sterilität nicht sicher gewährleistende Inkubationszeit zurück. Es wurden solche Fälle verwendet, bei denen die Nitschereaktion eindeutig positiv verlief. Bezüglich der Durchführung der Nitschereaktion verweisen wir auf die Arbeit von BAYERLE und Mitarbeiter (l. c.).

TABELLE II

Vergleich von Fibrinolyseausmass im Serum mit Fibrinlysis durch Urinpräparate bei positivem Ausfalle der Nitschereaktion:

Protokoll-Nr.	Diagnose	Fibrinolyse im Serum Versuche Lysiszeit in Std.			Lysiszeit in Stunden: bei erhitztem Fibrin durch Aceton-Urin Niederschläge	bei nicht erhitztem Fibrin durch Aceton-Urin Niederschläge
		a	b	c		
1.	Rectum-Ca	15	44	44	96	<18
2.	Uterus-Ca	15	72	72	124	24
39.	Pankreas-Ca	18	36	30	>96	6
27.	Magen-Ca	4	20	4	124	12
76.	Ulcus ventriculi	14	14	14	140	<24
49	Pankreatitis	12	64	60	96	8
50.	Cholecystitis	12	62	60	72	48
79.	Ulcus duodeni	12	40	40	96	72
4.	Portio-Ca	48	72	72	124	>6/<24
13.	Cholecystitis	40	120	120	144	22
56.	Rectum-Ca	28	96	27	96	6
61.	Diabetes	12	144	144	>110	8
83.	Ovarialcyste	40	144	72	>96	>12/<24
23.	Appendicitis	70	120	144	86	8
88.	Magen-Ca	36	62	96	72	12
42.	Leber-Ca	48	80	72	96	12

Wenn die Zahl der auf solche Art untersuchten Fälle auch nicht sehr gross war, so zeigt sich deutlich, dass eine erhöhte Plasminaktivität im Serum und positive Nitschereaktion nicht parallel gekoppelt sind mit fibrinolytischer Aktivität des Urins. Die positive Nitschereaktion ist nicht eine Folge oder ein Ausdruck für Plasmin, ist keine Plasminreaktion und kein Plasminnachweis. Dies geht auch hervor aus der Lage der pH-Aktivitätskurven wie BAYERLE und Mitarbeiter u.a. zeigten. Fibrin wird durch Plasmin und andere tryptische Fermente optimal im schwach alkalischen pH-Bereich gespalten. In einem sauren pH-Bereich, wie er durch die Arbeitsweise der Nitschereaktion vorgeschrieben ist, kann Plasmin oder ein anderes tryptisches Ferment nicht wirksam sein. Andererseits ist an der Realität eines proteolytischen Effektes bei der positiven Nitschereaktion nicht zu zweifeln. So bleibt zur Erklärung nur die Annahme:

1. Eine Wirksamkeit von Urokathepsin
2. Eine Wirksamkeit von Uropepsin
3. Eine Wirksamkeit von Polypeptidasen unter nicht optimalen Arbeitsbedingungen
4. Eine Wirksamkeit von Urokinase, welche auf dem Umweg über eine Aktivierung von am Substrat haftenden Plasminogen in Erscheinung tritt. Das Plasminogen stammt in diesem Fall also nicht aus dem Untersuchungsmaterial, dem Urin. Diese Deutung wurde schon in der erwähnten Arbeit von BAYERLE und Mitarbeiter (l. c.) in Erwägung gezogen.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird eine kurze Übersicht über die Fibrinolyse und über den gegenwärtigen Stand der Kenntnisse des Aktivators Urokinase gegeben.
2. Es wurde an über 50 Krankheitsfällen die Fibrinolyse experimentell untersucht und mit der gleichzeitig experimentell geprüften Urokinaseaktivität verglichen. Eine Parallelität beider Aktivitäten konnte nicht festgestellt werden.
3. Es wurde geprüft ob die Fibrinolyseaktivität im Blutplasma mit einer am Fibrin und an einem abgebauten Fibrinsubstrat getesteten proteolytischen Aktivität des Urins parallel läuft.
4. Es wird widerlegt, dass die direkt zu bestimmende Proteolyse von Urinpräparaten mit dem Plasmin (Fibrinolyse) des Plasmas identisch ist.

LITERATURVERZEICHNIS

(1) Schmitz, A.H. : Z. physiol. Chem. 244, 89 (1936)

(2) Tillet, W.S. und R.L. Garner:
J. Exper. Med. 58, 485 (1933)

(3) Dykerhoff, H. und Jakober:
Biochem. Zeitschr. 317, 72 (1944)

(4) Astrup, T. : Mediz. Grundlagenforschg. Thieme Verlag Stuttgart 1959

(5) Rüd, H. : Dissertation München 1936

(6) Halse, Th. : Die Fibrinolyse. Editio Cantor Freiburg 1948

(7) Bayerle, H. und G. Kirstein:
Klin. Wochenschrift 30, 352 (1952)

Bayerle, H. und K. Kammenhuber:
Blut IV, 78 (1958)

(8) Guest, M.M. und Mitarbeiter:
Am. J. Physiol. 171, 768 (1952)

(9) Celander, D.R. und M.M. Guest:
Am. J. Cardiol. 6, 409 (1960)

(10) Astrup, T. und I. Sterndorf:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 675 (1952)

(11) Sgouris, I.T., H.L. Taylor und K.B. Mc Call:
129th National Meeting of the Americ. Chemical Society, p. 13 C Dallas, Texas, April 1956

(12) Sherry, S. : J. Clin. Invest. 35, 735 (1956)

Alkjaersig N.

(13) Ploug, J. und N.O. Kjeldgaard:
Arch. Biochem., 62, 500 (1956)

(14) Doleschel, W. und W. Auerswald:
Wiener Zeitschrift f. innere Med. 41, 49 (1960)

(15) Bjerrehuus, I. : Skandinav. J. Clin. Lab. Invest. 4, 179, 1952

(16) Kaulla, von, K. : Thromb. Diäth. Haem. 3, 358, 1959

(17) Smyrniotis, F. E., A. P. Fletcher, N. Alkjaersig und S. Sherry:
Thromb. Diath. Haem. 4, 257 (1959)

(18) Seelich, F., M. Panlitschko und E. Kaiser:
Enzymologia Acta Biocatalytica Vol. XVI, Fasc. 1, (1953)

(19) Williams, I. R. B.: Brit. J. Exp. Path. 32, 530 (1951)

(20) Astrup, T. und S. Müllertz:
Arch. Biochem. u. Biophys. 40, 346, (1952)

(21) Bayerle, H., R. Marx und H. Heyn:
Ärztl. Forschung 3, 297 (1949)

(22) Schuler, R.: Das ärztl. Laboratorium 4, 381 (1958)

(23) Bayerle, H., H. Ebner-Putzar und Ch. Strohm:
Ärztl. Forschung XV, 291, (1961)

(24) Teusch, W.: Laboratoriumsmedizin. Hefte, Laborarzt-Verlag Würzburg 1955

(25) Schuler, R.: Das ärztl. Laboratorium, Würzburg 5, 7 (1957)

(26) Bayerle, H., H. Ebner-Putzar und Ch. Strohm:
Ärztl. Forschung XV, 287 (1961)

LEBENSLAUF

Am 18.12.1928 wurde ich, Wolfgang POPP, als Sohn des Studienprofessors Dr. Friedrich Popp und seiner Frau Renate, geb. Schöttle, in München geboren. Nach Besuch der Volksschule trat ich in das Theresiengymnasium in München über und legte dort 1948 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1949/50 begann ich das Studium an der Medizinischen Fakultät der Universität München und legte hier im Januar 1955 das medizinische Staatsexamen ab.

Nach einer vierteljährigen Tätigkeit am Institut für Pathologische Anatomie in München beendete ich meine Pflichtassistentenzeit am Kreiskrankenhaus München-Pasing. Die nachfolgenden 3 Jahre arbeitete ich dort auf der chirurgischen Abteilung. Seit September 1959 bin ich Stationsarzt der geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung.

Herrn Professor Dr. W. BÜNGELER, Direktor des Pathologischen Institutes, danke ich für die Übernahme des Referates.

Die Arbeit wurde in der chemischen Abteilung des Institutes ausgeführt.

Herrn Dr. phil. Dr. med. H. BAYERLE, Leiter der chemischen Abteilung, danke ich für die Überlassung des Themas und die zahlreichen Anregungen.